



TITLE:

# Studies on Mitogenic Activity of Endothelin on Smooth Muscle Cells( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Huzitani, Yasushi

---

CITATION:

Huzitani, Yasushi. Studies on Mitogenic Activity of Endothelin on Smooth Muscle Cells. 京都大学, 1997, 博士(農学)

ISSUE DATE:

1997-03-24

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/202409>

RIGHT:

氏 名	ふじ 藤 たに 谷 やす 靖 し 志
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	論 農 博 第 2134 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Studies on Mitogenic Activity of Endothelin on Smooth Muscle Cells (エンドセリンの平滑筋細胞増殖作用に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 佐々木隆造 教 授 伏 木 亨 教 授 井 上 國 世

### 論 文 内 容 の 要 旨

気管支喘息、動脈硬化などの疾患は平滑筋細胞の異常増殖を伴う。エンドセリンの平滑筋細胞に対する増殖作用に関してはこれまで多くの報告がなされているが、これらの疾患の発症や進行におけるエンドセリンの役割については未だ不明であり、治療薬の開発という点からも解明しなければならない問題である。さらに、これらの疾患が病変部位における慢性的炎症を伴うという観点から、疾患の発症と進行におけるエンドセリンの細胞増殖における役割を理解するためには、エンドセリンと炎症性サイトカイン及び増殖因子との相互作用を解析することが必須であると考えられる。本論文は以上のような視点から、細胞増殖におけるエンドセリンとサイトカイン、エンドセリンとチロシンキナーゼ型細胞増殖因子との相互作用を初代培養平滑筋細胞を用い明らかにしたものである。

第一章ではヒト大動脈平滑筋細胞を用いサイトカインのエンドセリンの細胞増殖作用、情報伝達系に対する影響について述べている。まずエンドセリンは大動脈平滑筋細胞において細胞増殖活性 (MAP キナーゼ活性化, DNA 合成促進) を有することを示している。次に各種炎症性サイトカイン (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-8, TGF $\beta$ ) 処理後の細胞でエンドセリンの細胞増殖活性を検討したところ、IL-1 $\beta$  によりエンドセリンの細胞増殖作用が消失していることを明らかにした。そこでどのような作用機序でエンドセリンの細胞増殖活性が IL-1 $\beta$  により抑制されているのかについて解明を試みている。その結果、IL-1 $\beta$  処理後の細胞ではエンドセリン刺激により細胞内 cAMP 濃度の上昇が新たに惹起されることが示された。さらにエンドセリンによる cAMP の上昇はインドメタシンで阻害されることから、プロスタノイドの産生を介したものであることが明らかとなった。これまで平滑筋細胞における cAMP の上昇は細胞増殖に対して抑制的に働くことが報告されている。そこでさらにインドメタシンの IL-1 $\beta$  処理平滑筋細胞におけるエンドセリンの細胞増殖作用に対する効果について検討を加えている。そして IL-1 $\beta$  処理平滑筋細胞において、インドメタシン存在下ではエンドセリンの細胞増殖活性が回復していることを見出した。この結果は IL-1 $\beta$  処理平滑筋細胞において、エンドセリン刺激による cAMP の上昇が、それ自身の細胞増殖作用を同時に抑制していることを示すものである。

第二章ではモルモット気管支平滑筋細胞を用い、エンドセリンとチロシンキナーゼ型増殖因子 Epidermal Growth Factor (EGF) との相互作用について述べている。気管支平滑筋細胞においてエンドセリン単独による細胞増殖活性は EGF に比べると非常に微弱であることが明らかとなったが、エンドセリンは EGF の細胞増殖作用を相乗的に増強することも同時に示している。結合実験の結果から、エンドセリンの EGF の細胞増殖作用に対する相乗的増強作用はエンドセリンのタイプ A 受容体を介したものであることを示している。さらにどのような作用機構でエンドセリンが EGF の情報伝達系に作用し、相乗的増強作用を示すのかについても検討を加えている。まずエンドセリンによるプロテインキナーゼ C 活性化の関与について検討を加えたところ、プロテインキナーゼ C の枯渇、ホスホリパーゼ C の阻害は、エンドセリンの EGF に対する相乗的増強効果に影響しないことが示されている。次にエンドセリンによる Gi 蛋白質活性化の関与について検討を加えている。その結果 Gi 蛋白質の阻害剤 (PTX) により相乗的増強効果は完全に抑制されることが示されている。さらに MAP キナーゼの活性化についても検討を行っている。まずエンドセリン刺激により一過性の、EGF により持続性の MAP キナーゼ活性化が引き起こされることが示されている。またエンドセリンは EGF による MAP キナーゼ活性化を増強することが明らかとなった。この増強効果も PTX により完全に抑制されることを見出している。以上の結果は気管支平滑筋細胞において、エンドセリンは Gi 蛋白質を介した機構で、EGF による細胞増殖作用を相乗的に増強することを示すものである。

## 論文審査の結果の要旨

近年、エンドセリンの産生が動脈硬化、気管支喘息において有意に上昇していること、エンドセリンが平滑筋細胞に対し細胞増殖作用を有することから、これらの疾患で観察される平滑筋細胞の異常増殖にエンドセリンが関与している可能性が示唆されている。本論文は、これらの疾患が、病変部位における慢性的炎症としてとらえられることに注目し、初代培養平滑筋細胞を用い、エンドセリンと炎症性の細胞から産生されるサイトカインやチロシンキナーゼ型増殖因子との平滑筋細胞増殖における相互作用を解析し、さらにその作用機構について詳細な検討を加えたものである。

本論文の評価すべき点は以下のとおりである。

1. ヒト大動脈平滑筋細胞におけるエンドセリンの細胞増殖作用は IL-1 $\beta$  処理により抑制されることを発見し、さらにその作用機構についても検討を行った。その結果、IL-1 $\beta$  処理細胞では、未処理細胞では観察されないエンドセリンによる細胞内 cAMP 濃度の上昇が起こり、この cAMP の上昇がエンドセリンの細胞増殖作用を抑制していることを見出している。この結果は、エンドセリンの細胞増殖因子としての作用は、他のサイトカインにより修飾をうけることを示す新しい知見である。

2. モルモット気管支平滑筋細胞において、エンドセリンがチロシンキナーゼ型増殖因子 Epidermal Growth Factor (EGF) の細胞増殖作用を相乗的に増強することを発見した。さらに著者はこの増強作用の作用機構についても検討し、エンドセリンが Gi 蛋白質の活性化を介し、EGF の細胞増殖作用を相乗的に増強することを明示した。この結果は 2 つの異なるクラスに属する細胞増殖因子の情報伝達におけるクロストークの可能性を示すもので非常に興味深い知見である。

以上のように、本論文で得られた結果は、気管支喘息、動脈硬化などの疾患部位においては、エンドセリンの平滑筋細胞に対する増殖作用は近傍の細胞より産生されるサイトカイン、またはチロシンキナーゼ型増殖因子と協調することにより、さまざまな調節を受けていることを示している。

本論文によって得られた知見は、細胞増殖の機構に関する観点より細胞生理学及び生化学、新規薬品の開発の視点より応用生命科学の発展に寄与するところ大である。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成9年2月14日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。